

琉球松菌根造林木在煤礦棄土地對硫的吸收

顏江河^{1,3)} 胡弘道²⁾ 鍾旭和¹⁾

摘要

將人工接種彩色豆馬勃(*Pisolithus tinctorius*)菌根的琉球松(*Pinus luchuensis*)栽植於煤礦棄土地，在土壤高硫含量下，全株硫含量濃度以細根處最高(2255 mg/kg)，第一老枝條硫含量(385 mg/kg)最低，各不同枝條之針葉硫含量由下至上遞增，但差異不大，惟皆高於枝條的硫含量；生長於煤礦棄土地的琉球松，其植株體內硫含量較其它採自非煤礦棄地土者為高，呈顯著差異，證實在煤礦棄土地土壤高硫含量下，琉球松吸入大量硫。以琉球松細根進行解剖觀察，發現根部的皮層細胞腔內有瘤狀的構造物存在，利用掃描式電子顯微鏡附元素能量光譜儀(SEM-EDS)分析證實含有高量的硫，顯示硫被吸收進入植物體內後，會累積在根部皮層細胞。

關鍵詞：煤礦棄土、菌根、硫、琉球松。

顏江河、胡弘道、鍾旭和。1997。琉球松菌根造林木在煤礦棄土地對硫的吸收。台灣林業科學12(4): 475-480。

Sulfur Uptake in Mycorrhizal Luchu Pines Established On Coal Mine Spoil

Chiang-Her Yen,^{1,3)} Hung-Tao Hu²⁾ and Hsu-Ho Chung¹⁾

[Summary]

Seedlings of Luchu pine (*Pinus luchuensis*) inoculated with mycorrhizal fungus (*Pisolithus tinctorius*) were established on coal mine spoil. Tissue analyses of these mycorrhizal pines showed that the fine roots had the highest sulfur concentration (2255 mg/kg), whereas the oldest branches contained the lowest sulfur concentration (385 mg/kg). Generally, sulfur contents in needles and branches increased from bottom to top with little variation, and contents of needles were always higher than those of branches for the same shoot. The sulfur contents in tissues of Luchu pines established on coal mine spoil were significantly higher than in those grown on normal sites. Our findings indicate that the Luchu pine is capable of absorbing large quantities of sulfur on coal mine spoil possibly *via* its mycorrhizal roots. Anatomical observations of the fine roots show that lump structures exist in the lumen of the cortex cells, and by using scanning electron microscopy and energy dispersive spectroscopy (EDS), we were able to prove that the lump structures stored in the cortex cells contained high concentrations of sulfur.

1) 台灣省林業試驗所森林經營系，台北市南海路 53 號 Division of Forest Management, Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nanhai Rd., Taipei, Taiwan, ROC.

2) 國立臺灣大學森林研究所，台北市羅斯福路四段 1 號 Graduate Institute of Forest, National Taiwan University, 1 Sec. 4, Roosevelt Rd., Taipei, Taiwan, ROC.

3) 通訊作者 Corresponding author

1997 年 6 月送審 1997 年 10 月通過 Received June 1997, Accepted October 1997.

Key words: coal mine spoil, mycorrhizae, sulfur, Luchu pine.

Yen, C.- H., H.- T. Hu, and H.- H. Chung. 1997. Sulfur uptake in mycorrhizal Luchu pines established on coal mine spoil. Taiwan J. For. Sci. 12(4): 475-480.

緒言

硫為植物生長的主要大量元素之一，為構成半胱胺酸(cysteine)與甲硫胺酸(methionine)的重要成分，在植物體中除了C, H, O, N, Ca, Mg, P之外，含量最多的元素，但是至今對此元素的瞭解仍不多，在國內亦甚少報告。硫通常以 SO_4^{2-} 型態被植物自根部所吸收，植物、細菌、真菌都能將 SO_4^{2-} 轉換成cysteine, methionine或其他含硫化合物，但動物卻不能，因此人類及其他動物必須經由植物及微生物獲得含硫氨基酸。硫在自然界的循環，同氮循環有相似的性質，且氮與硫同為構成蛋白質的主要成分。

台灣煤礦廢土大都以索道纜車堆棄成尖山狀，土質含大量石礫，結構疏鬆保水不易，易成乾旱，每遇下雨則土石極易流失，因此不論人工復舊造林或天然植生恢復皆極困難。本試驗地在台北縣平溪鄉菁桐煤礦棄土地，位於台鐵平溪支線菁桐站西北方約1.5 km處。該地況極為瘠劣，土壤呈極酸性且高鋁含量(胡弘道、顏江河, 1995)，同時因煤礦通常伴隨著許多黃鐵礦(pyrite)，主要成份為 FeS_2 ，曝露在空氣中進行一系列化學作用而產生大量硫酸根離子(顏江河等, 1997)，數年前在該棄土地上以接種彩色豆馬勃(*Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker & Couch.) (簡稱 *P.t.*) 外生菌根之琉球松(*Pinus luchuensis*) 苗栽植於該處，結果生長極為旺盛。顯示 *P.t.* 菌根能幫助琉球松在此逆境下正常生長。此外胡弘道與顏江河(1995)證實生長於此的琉球松菌根，能顯著降低土壤中以及土壤水中的鋁、硫濃度。本研究將延續探討同一試驗地，分析琉球松菌根對硫的吸收，將有助於解釋菌根在此處所可能扮演的生態功能。

材料與方法

一、試驗地概況

本試驗地位於台北縣平溪鄉菁桐煤礦棄土場，該地土壤極酸(pH 3.05)，含有大量鋁離子與硫酸根離子(胡宏道、顏江河, 1995)。於1989年10月，將人工接種 *P.t.* 菌根的琉球松苗與非菌根苗各二百株，分別栽植在運送棄土索道之兩側(250 x 4 m²)，栽植株距為1.2 m x 1.5 m，試驗地共栽植4行，*P.t.* 菌根苗與非菌根苗各2行，每行100株。經6個月後，所有未接種菌根的琉球松皆生長緩慢甚至死亡，而具 *P.t.* 菌根感染的琉球松苗則生長旺盛，經現場目視與顯微鏡觀察皆可證實 *P.t.* 菌根發育良好，且每年6-7月間在菌根周圍能形成大量 *P.t.* 子實體，未接種菌根之琉球松則陸續全部枯死。本研究即以此處具 *P.t.* 菌根感染之琉球松為試驗材料。

二、硫在琉球松植物體內的聚集

至試驗地以簡單隨機取樣(simple random sample)方式選取三棵琉球松，進行全株收穫，分成第一枝葉到第六枝葉、第一枝條到第六枝條、幹、幹皮、頂梢(最上枝條以上)皮葉、頂梢幹、幹葉(長在主幹上的針葉)、大根(5 mm < 直徑)、中根(2 mm < 直徑 < 5 mm)、細根(直徑 < 2 mm)等共20個樣點(如Fig. 1)。所採回樣本經自來水洗淨後，再以蒸餾水沖洗，置於65°C下烘乾一星期，秤乾重後，以磨粉機磨粉，進行硫含量分析。取試樣0.1 g包在濾紙(Whatman no. 42)中，點燃濾紙前端後迅速插入充滿氧氣及25 ml蒸餾水的燃燒瓶中(如Fig. 2)完全燃燒之後，搖晃瓶子使蒸餾水將燃燒後之煙霧完全溶入水中，並靜置30分鐘以上，之後以離子層析儀(Ion Chromatography, 簡稱 I.C.)測定硫酸根離子之量(顏江河, 1996)，扣除空白組之硫酸根後，換算成植物體硫含量(Busman *et al.*, 1983)。每一棵琉球松各分析3次，每一取樣點合計9個數據之平均值。本試驗重複1次，以第二次試驗

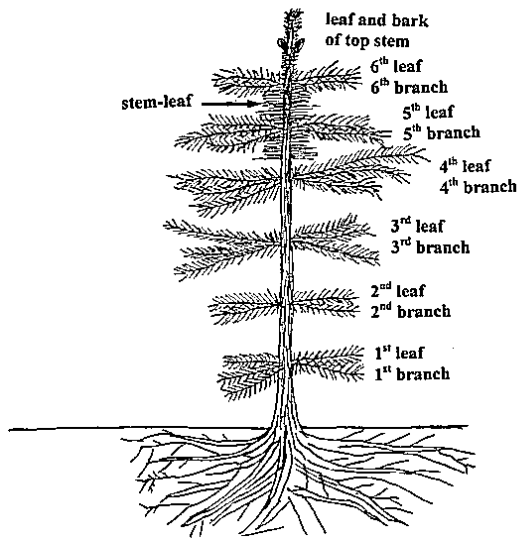


Fig. 1. Sample collection positions of the Luchu pine.

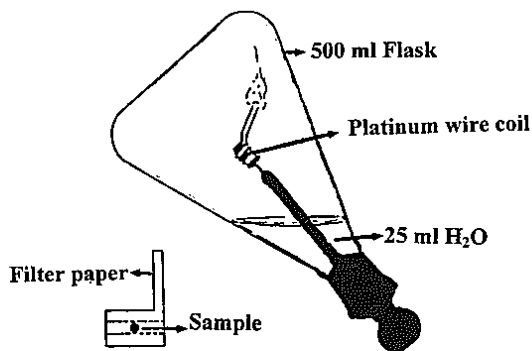


Fig. 2. Diagram of oxygen flask and filter paper used for enclosing plant sample.

結果作為本報告分析之用。

三、根部解剖觀察分析

利用掃描式電子顯微鏡附元素能量光譜儀 (SEM-EDS) 分析技術觀察硫在根部的堆積處。取自試驗地現場之琉球松根部樣本，先將細根，以蒸溜水沖洗乾淨，用刀片切成約 2 cm 長，放入不銹鋼網籃中，經液態氮急速冷凍後，置於冷凍乾燥機 (Labconco Lyph-Lock 4.5) 中，在 -52°C 中 72 小時乾燥後，於立體顯微鏡 (Nikon SMZ-2T) 下將細根切成約 2 mm 厚的橫切面，利用鑷子將切片粘在已貼上碳膠的碳台上，再以

高真空蒸鍍機 (Hitachi HUS-5GB) 鍍碳，樣品完成後赴國科會台北貴儀中心以掃描式電子顯微鏡 (Hitach S-2400) 附設之能量光譜儀 (EDS)，進行元素分析觀察 (Eleftheriou *et al.* 1993)。

四、對照試驗組採樣觀察

由於本試驗地未接種菌根之琉球松苗全數枯死，無法對照比較，因此選取試驗地附近但非煤礦棄土地上生長的琉球松，以及新店與北投地區之琉球松苗，每一採樣地各選擇 3 株樹型、樹齡相似之琉球松，分別採取第四枝條、第四枝葉、中根與細根等四處部位，所得樣本進行與上述 *P.t.* 菌根苗相同的分析試驗。

結果與討論

Table 1 為煤礦棄土地琉球松植物體各部位硫濃度分析結果，同一部位上琉球松針葉之硫濃度高於枝條，其中又以幹葉為最高 (1323 mg/kg)，若以不同部位的枝條、針葉相比較，則由下而上 (由第一枝到頂梢) 硫濃度有增加趨勢，亦即老葉硫濃度低於新葉，硫濃度自第一

Table 1. Sulfur concentration of Luchu pine planted on coal mine spoil

Sample location	Sulfur ¹⁾ (mg/kg)
Leaf and bark of Top stem	746.7 ± 16.1
Top stem	585.0 ± 18.0
6 th branch	920.0 ± 31.2
6 th leaf	1281.7 ± 17.6
5 th branch	820.0 ± 31.2
5 th leaf	1218.3 ± 33.2
4 th branch	776.7 ± 25.7
4 th leaf	1235.0 ± 42.7
3 rd branch	656.7 ± 20.8
3 rd leaf	1191.7 ± 32.5
2 nd branch	525.0 ± 27.8
2 nd leaf	1025.0 ± 32.8
1 st branch	385.0 ± 18.3
1 st leaf	911.7 ± 27.5
Stem-leaf	1323.3 ± 35.1
Bark	576.7 ± 25.7
Stem	401.7 ± 17.6
Main root	718.3 ± 28.4
Middle root	1093.3 ± 35.1
Fine root	2255.0 ± 57.7

¹⁾ Means represent 3 replicates sampled from 3 Luchu pines.

Table 2. Sulfur concentration of Luchu pine collected from coal mine spoil, Peitou, Hsintien, and Pingshi.

Position	Coal mine spoil	Hsintien	Peitou	Pingshi
Branch	776.7 ± 25.7 ¹⁾	416.7 ± 20.2	665.0 ± 27.8	556.7 ± 25.7
Leaf	1235.0 ± 42.7	646.7 ± 35.5	953.4 ± 36.9	686.7 ± 25.7
Middle root	1093.3 ± 35.1	753.3 ± 30.1	953.3 ± 40.1	860.0 ± 25.0
Fine root	2255.0 ± 57.7	925.0 ± 33.0	1231.7 ± 48.6	1073.3 ± 55.3

¹⁾ Means represent 3 replicates sampled from 3 Luchu pines.

Table 3. Chemical properties of soils collected from coal mine spoil, Hsintien, Peitou, and Pingshi.

Collection site	Coal mine spoil	Hsintien	Peitou	Pingshi
pH	3.68 ± 0.11 ¹⁾	5.80 ± 0.06	4.64 ± 0.09	5.02 ± 0.12
Total-N (%)	0.23 ± 0.06	0.38 ± 0.04	0.29 ± 0.05	0.31 ± 0.03
NH ₄ -N (mg/kg)	8.74 ± 0.38	14.10 ± 0.36	11.09 ± 0.32	9.85 ± 0.29
NO ₃ -N (mg/kg)	28.95 ± 1.25	42.38 ± 1.84	35.31 ± 1.73	32.43 ± 1.24
Available-P (mg/kg)	6.23 ± 0.67	24.29 ± 0.62	17.78 ± 0.69	13.86 ± 0.43
Exchangeable-K (Cmol(+)/Kg)	0.25 ± 0.04	0.52 ± 0.02	0.43 ± 0.04	0.46 ± 0.03
Exchangeable-Ca (Cmol(+)/Kg)	0.66 ± 0.08	10.96 ± 0.62	8.85 ± 0.51	7.65 ± 0.41
Exchangeable-Mg (Cmol(+)/Kg)	0.45 ± 0.12	3.51 ± 0.10	3.03 ± 0.08	2.95 ± 0.08
CEC ²⁾ (Cmol(+)/Kg)	18.01 ± 0.62	28.35 ± 0.58	26.52 ± 0.58	23.53 ± 0.58
Inorganic-S (mg/kg)	1443.23 ± 68.74	165.84 ± 7.57	356.36 ± 12.45	176.54 ± 7.91
Exchangeable-Al (mg/kg)	735.82 ± 38.53	51.78 ± 3.33	81.22 ± 6.31	73.56 ± 5.64
Organic matter (%)	5.39 ± 0.45	8.45 ± 0.48	7.98 ± 0.48	6.58 ± 0.48

¹⁾ Means represent 3 replicates sampled from 3 Luchu pines.

²⁾ CEC: cation exchange capacity.

葉的912 mg/kg增加至第六葉的1282 mg/kg，老枝條硫濃度低於新枝條，硫濃度自第一枝條(老枝條)的385 mg/kg增加至第六枝條(新枝條)的920 mg/kg，雖然一般老葉的養分濃度低於嫩葉可能肇因於纖維素與木質素的累積而造成的稀釋作用，但Schupp and Rennenberg (1992)研究挪威雲杉(Norway spruce)的新針葉形成時，發現有大量的硫自老葉移向新葉的現象，證實硫在植株體內有較大的流動性，本試驗結果符合硫代謝特性。硫在煤礦棄土地琉球松植株體內最高的聚積處為細根部位，濃度達2255 mg/kg。由於在本煤礦棄土試驗地上非菌根苗皆無法存活，因此採取北投、新店、平溪地區琉球松與本試驗地者相比較(Table 2)，顯示煤礦棄土地琉球松植株體內之硫濃度，不論枝條、葉、細根或中根，皆較其它三處琉球松顯著為高(p < 0.05)，尤其在細根部位硫濃度，為其它地區者之1.83倍至2.4倍，此點說明煤礦棄土地琉球松在高硫含量土壤中，能將硫養分吸收進入體內，堆積

儲存在細根部位。其它三個採樣區中以北投的含硫量最高，應與該地屬硫磺地質有關。Table 3為四個琉球松植體的採樣地土壤分析結果，煤礦棄土地之pH值較其他三處採樣地為低，呈顯著性差異(p < 0.05)，煤礦中含大量FeS₂，暴露在空氣中進行系列化學反應後，會產生大量的H⁺與SO₄²⁻，土壤中因H⁺之吸附，故植物生長所需之鉀、鈣、鎂等重要養分會大量流失，並且溶解性鐵、鋁、錳大量釋出，致影響植物正常生長，甚至中毒死亡(Foy *et al.*, 1978)。一般而言，土壤pH值低於4.5以下即有大量的Al³⁺釋出而影響植物生長(Ulrich *et al.*, 1980)。在煤礦棄土地土壤中，土壤pH值僅3.20，可置換鋁為其他三處採樣地土壤的十餘倍之多；相反的，植物生長所需之陽離子置換能量(Cation Exchange Capacity, 簡稱CEC)、全氮量和有效磷指數卻比其他土壤含量顯著為低，但是由琉球松生長狀況與植物體養分分析結果，煤礦棄土地之琉球松並未因土壤中高鋁含量而大量累積鋁(顏江

河, 1996), 顯然本棄土試驗地上之琉球松並未受到低pH值與高鋁含量的影響。此外沒有接種 *P.t.* 之琉球松在本試驗地, 則全部枯死無法成活, 顯然 *P.t.* 菌根在此煤礦棄土地對琉球松的生理與生態扮演極重要角色。在本試驗地上除了大頭茶 (*Gordonia axillaris* Dietr.) 能自然植生之外, 沒有其他木本植物能自然存活, 鍾旭和與顏江河 (1997) 證實大頭茶因具有解鋁毒害的生理機制, 在本試驗地能存活下來, 琉球松雖屬較能抵抗鋁毒危害的松類 (Schaedle *et al.*, 1989), 但不具菌根感染的琉球松在高鋁含量的煤礦棄土仍無法存活。

探討硫在植物體內的堆積情況, 在國內研究報告相當缺乏, 主要原因為硫的定量較困難, 一般常用 $BaSO_4$ 沈澱法、或濁度法、或比色法 (Tabatabai and Chae, 1982), 這些方法通常耗時且需精純技術, 加上硫雖然是植物所需的大量元素, 但一般正常土壤並不缺乏, 因此少有報告探討。本實驗採用燃燒瓶在密閉中進行完全燃燒, 可在短時間完成樣本的前處理工作, 之後以 I.C. 進行 SO_4^{2-} 的定量, 可獲得相當準確的定量圖譜 (Fig. 3), 且其分析之精確度極高 (Busman *et al.*, 1983)。因此利用此方法可快速獲得硫的分析結果。最近已有元素分析儀 (element analyzer), 對於植體內不易分析的 C, N, H, O, S 提供更快速又精確的分析。

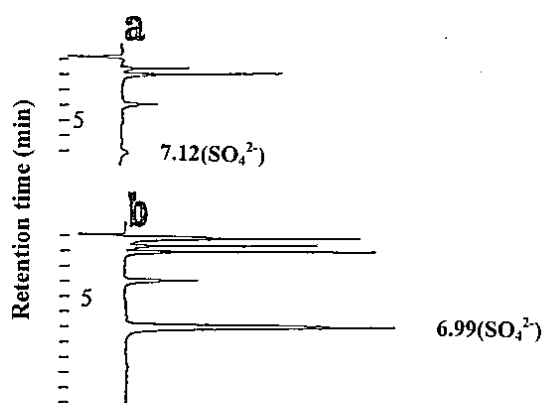


Fig. 3. Typical IC chromatogram resulting from injection of absorbing solution from oxygen flask before (a) and after (b) adding plant tissue to filter paper.

生長於煤礦棄土地的琉球松, 在高硫含量下, 硫元素會被吸收進入植體內, 因此琉球松植體內硫含量比其它採樣地者為高, 尤其細根部硫濃度更高 (2255 mg/kg), 由細根部解剖觀察可發現在皮層細胞腔內, 發現有瘤狀物構造 (Fig. 4), 以 SEM-EDS 分析此瘤狀物, 證實為高硫含量的物質 (Fig. 5), 在同樣情況下土壤中的鋁, 不會被琉球松菌根吸收進去, 會被菌根的菌氈 (fungal mantle) 有效地阻擋 (顏江河, 1996), 此結果可說明琉球松菌根在煤礦棄土地高硫土壤中, 對鋁、硫的吸收特性完全不一樣, 鋁大部份被菌根菌氈所阻礙, 只有少數進入根細胞, 硫則大部份進入植物體內, 除供應各處生長所需之外, 能在根部皮層細胞大量儲存。

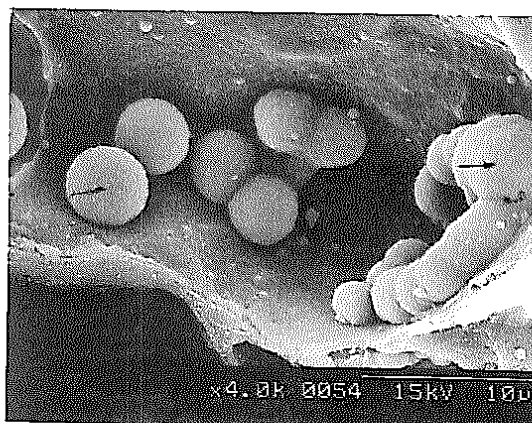


Fig. 4. SEM micrograph of root cortex cell of Luchu pine with lumps present (arrowhead).

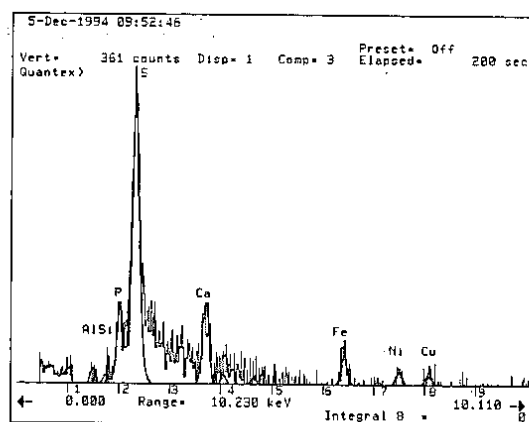


Fig. 5. SEM-EDS spectra of lump inside the root cortex cell of Luchu pine grown on coal mine spoil.

結論

生長在煤礦棄土地具菌根的琉球松，在高硫濃度的土壤中，會大量吸收硫。一般新葉之硫濃度高於老葉，尤其長在枝梢處的幹葉硫濃度最高(1323 mg/kg)，枝條部位的硫濃度則顯著低於枝葉部位，同樣的老枝條之硫濃度有低於新枝條的現象，樹幹與樹皮之硫濃度則遠低於葉部與枝條，大根之硫濃度與枝條相似，中根之硫濃度與葉部相似，細根之硫濃度則最高(2255 mg/kg)，利用SEM-EDS分析發現部份硫累積在根部的皮層細胞腔內，形成瘤狀富含硫的構造物，證實菌根在本試驗地對硫的吸收特性與鋁完全不同，鋁被菌絲所堆積，摒除在根部之外，硫則會被吸收進入植物體內，除供生長之需外，根部皮層細胞有儲存現象。

引用文獻

- 胡弘道、顏江河。1995。煤礦棄土菌根造林地土壤中氮、硫及金屬離子之動態研究。台大農學院研究報告 35(4): 431-441。
- 鍾旭和、顏江河。1997。煤礦棄土地大頭茶抗鋁毒害機制之研究。台灣林業科學 12(2): 167-175。
- 顏江河。1996。彩色豆馬勃琉球松菌根在煤礦棄土對土壤溶液中鋁、硫含量及其吸收之效應。台大森研所博士論文。110頁。
- 顏江河、胡弘道、鍾旭和。1997。煤礦棄土地土壤溶液中鋁物種之檢測。台灣林業科學 12(4): 403-411。
- Busman, L. M., R. P. Dick, and M. A. Tabatabai. 1983. Determination of total sulfur and chlorine in plant materials by ion chromatography. Soil. Sci. Soc. Am. Vol. 47: 1167-1170.
- Eleftheriou, E. P., M. Moustakas, and N. Fragiskos. 1993. Aluminate-induced changes in morphology and ultrastructure of *Thinopyrum* roots. J. Exp. Bot. 44: 427-436.
- Foy, C. D., R. L. Chaney, and M. C. White. 1978. The physiology of metal toxicity in plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 29: 511-566.
- Schaedle, M., F. C. Thornton, D. J. Raynal, and H. B. Tepper. 1989. Response of tree seedlings to aluminum. Tree Physiol. 5: 337-356.
- Schupp, R., and H. Rennenberg. 1992. Changes in sulfur metabolism during needle development of Norway spruce. Bot. Acta. 105: 180-189.
- Tabatabai, M. A., and Y. M. Chae. 1982. Alkaline oxidation method for determination of total sulfur in plant materials. Agron. J. 74: 404-406.
- Ulrich, B., R. Mayer, and P. K. Khanna. 1980. Chemical changes due to acid precipitation in a loess derived soil in central Europe. Soil Sci. 130: 193-199.